

症例報告

痛風結節の確定診断におけるデ・ガラント染色の有効性に関する検討

多根総合病院 中央検査部¹, 皮膚科²

増本 岳彦¹ 田中 志津香¹ 秦本 亜矢¹ 小澤 晋子¹
 竹浦 久司¹ 吉原 渡¹ 谷垣 武彦²

要 旨

今回、我々は通常ヘマトキシリン・エオジン染色（以下 H・E 染色）では特定できない無構造物質をデ・ガラント染色を施行することにより尿酸塩結晶と特定し、痛風結節と病理診断した症例を経験した。症例 1 は 90 歳女性で左第 3 趾の結節で来院し、臨床診断では多発性嚢腫であった。H・E 染色での無構造物質がデ・ガラント染色で黒染され、痛風結節と診断した。症例 2 は 67 歳男性で左足外果部結節で来院。メタノール固定検体にデ・ガラント染色を施行し、痛風結節と診断した。さらに、染色方法に関する検討では硝酸銀水溶液の染色段階で強い太陽光下の条件は必須であること、また固定液に関してはホルマリンよりもメタノール固定法が優れていることを検証した。痛風結節を疑う時はメタノール固定し、デ・ガラント染色を施行することが重要であった。

Key words：デ・ガラント染色；痛風結節

はじめに

デ・ガラント染色は病理組織検体にみられる尿酸塩結晶（針状物質）を黒く染め出す染色で、1935 年に De Galantha 氏により論文発表された染色である¹⁾。しかし、近年の病理検査室においてはあまり知られていない染色で、当院の病理検査室でも今まで実施したことはなかった。今回、我々は皮膚科外来から提出された皮膚生検の組織検体を分析するにあたり、H・E 染色標本で特定できない無構造物質を認めため、デ・ガラント染色を実施した。明瞭に針状の尿酸塩結晶を証明することにより、痛風結節の病理診断を得ることができた症例を経験した。デ・ガラント染色の染色方法に関する検討を施行したので、若干の文献的考察を加えて報告する。

症 例 1

患者：90 歳女性
 主訴：左第 3 趾の結節
 家族歴：特記すべきことなし

既往歴：特記すべきことなし

現病歴：胆嚢炎、乳癌のため手術的に外科入院中、左足趾部の無痛性腫瘍を訴え、皮膚科に紹介となる。

現症：左第 3 趾爪根部から背部にかけて正常皮膚色の径 3.0 × 2.0 cm 大の結節があり、その中に黄白色の凸の部分が 3 個存在していた。

血液検査所見：腎機能、肝機能に異常なし。血清尿酸値が 8.8 mg/dl と高値であった。

臨床診断：多発性嚢腫

病理組織学的検査：黄白色部分の皮下組織生検を 2 回施行した。1 回目は 20%ホルマリン固定、2 回目は無水メタノール固定の状態で検体が提出された。H・E 染色では無構造物質を認め（図 1）、2 回目検体でデ・ガラント染色を実施し、尿酸塩結晶の沈着が明瞭に確認されたため（図 2）、痛風結節と診断した。

症 例 2

患者：67 歳男性
 主訴：左足外果部の結節

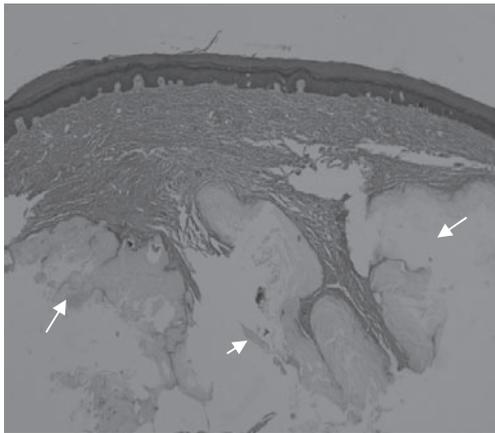


図1：H・E染色（×40）
皮膚生検のH・E染色標本。無構造物質を認める（矢印）。

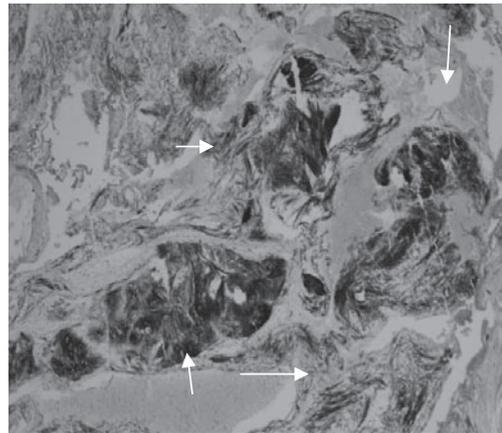


図2：デ・ガラシタ染色（×40）
針状の尿酸塩結晶が標本全体に認められる（矢印）。

家族歴：特記すべきことなし

既往歴：痛風（40歳）、胆石手術（58歳）

現症：近医で10数年前より痛風の内服治療を施行していた。数年前より左足結節が次第に増大してきたため、切除希望で来院した。

血液検査所見：血清尿酸値は7.9 mg/dlであった。

病理組織学的検査：皮膚生検検体が無水メタノール固定の状態で提出され、デ・ガラシタ染色を実施し、尿酸塩結晶の沈着が明瞭に確認され、痛風結節と診断した。

【デ・ガラシタ染色について】

（染色理論）

組織内の尿酸Naを硝酸銀液で処理するとNaと銀が入り替わり尿酸が銀塩として沈着する。置換された尿酸銀に写真現像液（ヒドロキノン液）を作用させると強い光により還元され可視化される。金属置換法の一つと考えられるが、反応機構には不明な点が残されている。



↳ ヒドロキノン液で還元して黒色化する。

（試薬及び染色方法）

固定）組織検体は無水メタノールで固定する。

試薬）① 20%硝酸銀水溶液

- ② 現像液…3%ゼラチン 10 ml
20%硝酸銀水溶液 3 ml
2%ヒドロキノン液 2 ml

染色方法）

- ① 脱パラフィン，水洗，蒸留水で水洗する。
- ② 20%硝酸銀水溶液（約3時間）…強い日差しに当てる。
- ③ 現像液を尿酸塩が黒色に，結合組織が黄色になるまでスライドに注ぎかける。
- ④ 58℃のお湯ですばやく洗う。
- ⑤ 脱水，透徹，封入。

【染色方法に関する検討】

（検討①）

内容：固定液の違いによる染色態度の比較

方法：ホルマリン固定した検体（図3）とメタノール固定（図4）した検体それぞれで，デ・ガラシタ染色を実施した。

結果：ホルマリン固定標本では尿酸塩結晶と背景とのコントラストが不明瞭であったがホルマリン，メタノールの両固定標本共に尿酸塩結晶は黒く染色された。

（検討②）

内容：硝酸銀水溶液染色時における日差しの違いによる染色態度の比較

方法：上記染色方法内の②硝酸銀水溶液の染色を強い太陽光，曇り空，室内（蛍光灯）の3段階の違いで行った。

結果：強い太陽光下に染色液を置いての染色では尿酸塩結晶は明瞭に黒く染色され，背景の黄色い結合組織とのコントラストも良好であった。しかし，曇り空のような太陽光の日差しが弱い状況での染色や検査室内で全く太陽光の当たらない

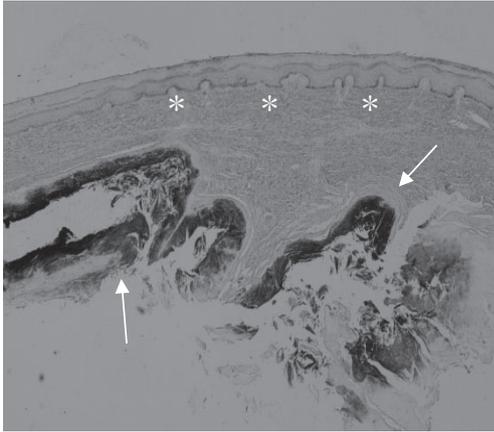


図3：ホルマリン固定（×40）
尿酸塩結晶は弱い黒色を呈すが確認できる（矢印）。背景（*）とのコントラストも若干不明瞭。

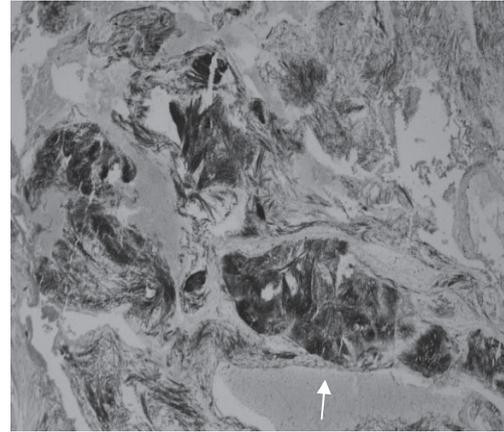


図4：メタノール固定（×40）
良好な染色態度。尿酸塩結晶は黒く明瞭に確認でき（矢印）、背景（黄色）も明瞭。

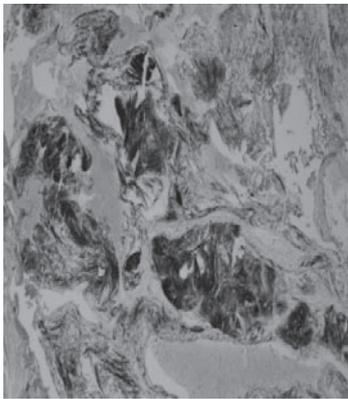


図5：強い太陽光（×40）
良好な染色態度である。

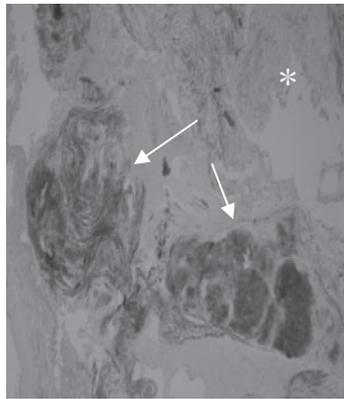


図6：弱い日差し（×40）
尿酸塩結晶は薄い茶色になり（矢印）、背景も白くなっている（*）。

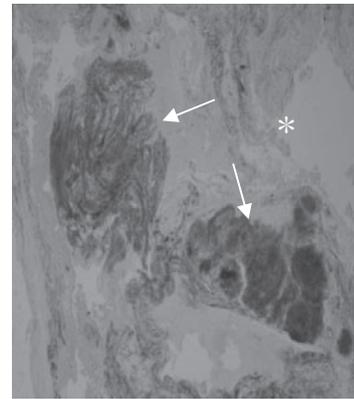


図7：室内（×40）

染色液での染色では、尿酸塩結晶は茶色を呈し、また背景の結合組織も黄色調が弱くなることにより尿酸塩結晶と背景とのコントラストもはっきりしなくなった。

考 察

デ・ガラント染色は病理組織検体にみられる尿酸塩結晶（針状物質）を黒く染め出す染色で、1935年にDe Galantha氏により論文発表された染色である¹⁾。しかし、近年の病理検査室においてはあまり知られていない染色で、当院の病理検査室でも今まで実施したことはなかった。通常、痛風結節の病理診断はH・E染色標本で尿酸塩結晶の脱落痕、またその周囲に多核巨細胞を伴う炎症細胞の浸潤像などが見られた際に無構造物質を臨床所見、画像診断などの情報を鑑み、痛風結節と診断する場合が多い²⁾。今回の症例である皮

膚科領域では、近年、痛風結節は薬剤の進歩や検診の普及により稀になってきている。

症例1は多発性囊腫の臨床診断であった。しかし、H・E標本での無構造成分の物質を確認するためにデ・ガラント染色を実施したところ、明瞭に尿酸塩結晶が証明され、痛風結節の早期確定診断に至った。また、症例1の約1カ月後の症例2を経験することになったが症例2についてもデ・ガラント染色を実施することで、症例1同様に痛風結節の診断に至った。これは臨床、病理検査室共に症例1の経験が症例2に生かされた結果と言える。

デ・ガラント染色の染色方法に関する検討で検討①の固定液の違いによる染色態度の比較ではホルマリン、メタノールともに尿酸塩結晶は黒く染色されるものの、ホルマリン固定標本ではコントラストが付きにくい傾向にあった。症例1では1回目の検体がホルマ

リン固定で提出されたため、H・E染色で結晶を疑う程度の所見しか得られず、再度メタノール固定による検体により、尿酸塩結晶は顕著に染色され、確定診断を得ることができた。また症例2でもメタノール固定検体により確定診断を得ており、痛風結節を疑う時はメタノール固定によるデ・ガラント染色が有用であることが示唆された。通常病理組織検体はホルマリン液（当院では20%中性緩衝ホルマリンを使用）で固定するが、尿酸塩結晶はホルマリン液では溶出するといわれているために、尿酸塩結晶を証明するにはメタノール固定を行ったうえで、デ・ガラント染色を実施することになっている。しかし、今回の症例1の様に臨床で痛風結節と診断しておらず、ホルマリン固定で提出された検体でも、H・E染色標本において結晶成分を示唆した場合にはデ・ガラント染色を実施する意義は十分あるという結果を得た。

検討②では強い太陽光を当てた標本が良好な染色標本になり、染色液を太陽光の日差しが弱い曇り空や全く太陽光の当たらない検査室内（蛍光灯下）に置いた標本とでは染色態度に大きな違いが出た。これは当初

予想していたよりも大きな相違点であり、デ・ガラント染色を行う上では硝酸銀水溶液を強い太陽光の下で染色することが重要であると検証することができた。この強い太陽光が必要な理由はデ・ガラント染色の染色理論がカルシウムなどの無機塩の染色原理と同様のものであると考える³⁾。

おわりに

今回我々はデ・ガラント染色で尿酸塩結晶を証明することにより確定診断を得た痛風結節症例を経験した。デ・ガラント染色は尿酸塩結晶の検出に有用であり、痛風結節の診断には重要な染色であると考えられる。

文 献

- 1) De Galantha, E: Am J Clin Pathol, 5: 165-166, 1935
- 2) 石川栄世, 牛島宥, 遠城寺宗知: 外科病理学 文光堂, 東京, 909-911, 1995
- 3) 浅井宏祐: 病理標本の作り方, 文光堂, 東京, 178, 1992